

**This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- **BLACK BORDERS**
- **TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- **FADED TEXT**
- **ILLEGIBLE TEXT**
- **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- **COLORED PHOTOS**
- **BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS**
- **GRAY SCALE DOCUMENTS**

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

97

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平7-126286

(43)公開日 平成7年(1995)5月16日

(51)Int.Cl. ⁴	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 0 7 K 5/03		8318-4H		
A 6 1 K 38/55	ABE			
	ABU			
		A 6 1 K 37/ 64	ABE	
			ABU	

審査請求 未請求 請求項の数2 OL (全 14 頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願平5-277184

(22)出願日 平成5年(1993)11月5日

(71)出願人 000006677

山之内製薬株式会社

東京都中央区日本橋本町2丁目3番11号

(72)発明者 平山 復志

茨城県つくば市二の宮2丁目5番9 ルー

ミー筑波319号

(72)発明者 相部 和彦

千葉県柏市布施新町3-5-3

(72)発明者 阿部 賢二

埼玉県上尾市大字小泉406-3

(74)代理人 弁理士 渡邊 一平 (外3名)

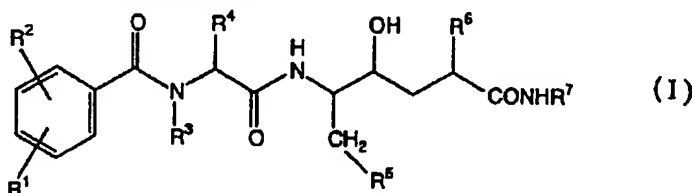
(54)【発明の名称】 新規なペプチド誘導体

(57)【要約】

【構成】 下記一般式 (I) で示される新規なペプチド*

*誘導体又はその塩。

【化1】



(式中、R¹及びR²は、同一又は異なって、水素原子、カルボキシ基、又は、1～3個の酸素原子で中断されてもよい炭素数が1～10のアルコキシカルボニル基であり；R³は、水素原子、又は低級アルキル基であり；R⁴は、低級アルキル基であり；R⁵は、環骨格の炭素数が4～8のシクロアルキル基であり；R⁶は、ヒドロキシ基で置換されてもよい低級アルキル基であり；R

⁷は、低級アルキル基である。)

【効果】 カンジダ・アルビカンスが生産する酸性プロテアーゼに対して阻害作用を有し、酸性プロテアーゼ阻害剤として有用である。従って、抗真菌剤として有用であるのみならず、抗炎症剤、降圧剤、抗潰瘍剤、抗ウィルス剤等として有用である。

1

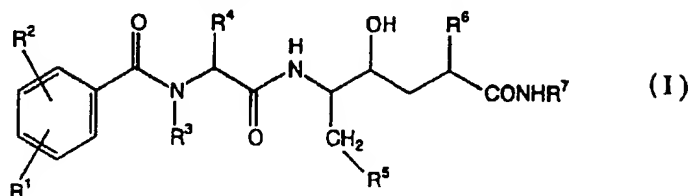
2

【特許請求の範囲】

【請求項1】 下記一般式(I)で示される新規なペプ*

*チド誘導体又はその塩

【化1】



(I)

(式中、

R¹及びR²は、同一又は異なって、水素原子、カルボキシル基、又は、1～3個の酸素原子で中断されてもよい炭素数が1～10のアルコキシカルボニル基であり、

R³は、水素原子、又は低級アルキル基であり、

R⁴は、低級アルキル基であり、

R⁵は、環骨格の炭素数が4～8のシクロアルキル基であり、

R⁶は、ヒドロキシ基で置換されてもよい低級アルキル基であり、

R⁷は、低級アルキル基である。)

【請求項2】 請求項1に記載のペプチド誘導体又はその塩を有効成分とするカンジダ・アルビカンスの酸性プロテアーゼ阻害剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】

本発明

は、酸性プロテアーゼ阻害作用を有する新規ペプチド誘導体又はその塩に関する。

【0002】

【従来の技術】 真菌症の起因菌の代表として、カンジダ・アルビカンスが挙げられる。このカンジダ・アルビカンスが生産する酸性プロテアーゼは、真菌培養用のサブロー培地での培養では分泌されないが、ヒト皮膚角質や血清アルブミンを唯一の窒素源として加えて培養すると菌体外に誘導生産されることが知られている(小川秀興ら、日皮会誌、93巻、4号、463頁、1983年)。なお、酸性プロテアーゼは、アスパラギン酸プロ※

※テアーゼともいい、pHが2～7の酸性で最適なpHをもち、活性中心にアスパラギン酸が存在する。

【0003】 しかもヒト皮膚角質を窒素源とする培地で培養したとき、酸性プロテアーゼの非特異的阻害物質であるペプスタチンAがアゾール系抗真菌剤より強力な抗真菌活性を示すことも報告され(坪井良治ら、真菌誌、25巻、4号、387頁、1984年)、カンジダ・アルビカンスの酸性プロテアーゼの特異的な阻害物質が新しい作用機作を持った抗真菌剤となり得ることが期待される。

【0004】 さらに腎性高血圧症の起因酵素であるレニン、炎症の起因酵素の一つであるカテプシンA、胃液中に存在するペプシンA、HIVのウィルス粒子形成に、ひいてはHIVの感染に重要なプロテアーゼも酸性プロテアーゼなので、酸性プロテアーゼ阻害物質は新たな作用機作の降圧剤、抗炎症剤、抗潰瘍剤、抗ウィルス剤としての開発の可能性も期待される。

【0005】

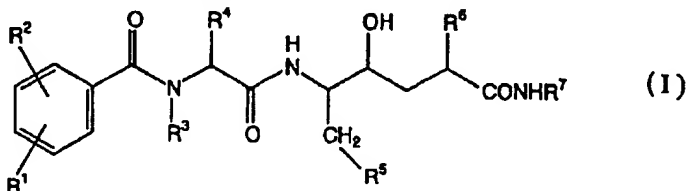
【発明が解決しようとする課題】 従って、本発明は、カンジダ・アルビカンスの酸性プロテアーゼを阻害作用を作用機作とする抗真菌剤に有用な物質を提供することを目的とする。

【0006】

【課題を解決するための手段】 即ち、本発明は下記一般式(I)で示される新規なペプチド誘導体又はその塩に関する。

【0007】

【化2】



(I)

【0008】 (式中、R¹及びR²は、同一又は異なって、水素原子、カルボキシル基、又は、1～3個の酸素原子で中断されてもよい炭素数が1～10のアルコキシカルボニル基であり、R³は、水素原子、又は低級アルキル基であり、R⁴は、低級アルキル基であり、R⁵は、環骨格の炭素数が4～8のシクロアルキル基であり、R⁶は、ヒドロキシ基で置換されてもよい低級アルキル基であり、R⁷は、低級アルキル基である。) また、本発

明は、上記ペプチド誘導体又はその塩を有効成分とするカンジダ・アルビカンスの酸性プロテアーゼ阻害剤を提供する。

【0009】 更に、本発明は、上記のペプチド誘導体又はその塩を油中水型乳剤の油相に含ませたことを特徴とする注射用乳剤を提供する。また、油成分として脂肪酸トリグリセリドを用いることが好ましい。

【0010】 更に、油成分として中鎖脂肪酸トリグリセ

3

リドを用いてもよい。更にまた、主要な乳化剤としてリン脂質を用いることが好ましい。

【0011】以下、本発明を更に詳述する。本発明化合物(1)において、 R^1 及び R^2 は、水素原子、カルボキシ基、又はアルコキシカルボニル基である。カルボキシ基とは、 $-COOH$ を意味する。また、 R^1 の置換基と、 R^2 の置換基とは同一でもよければ、異なってもよい。しかし、 R^1 及び R^2 の両者が水素原子でないことが好ましい。

【0012】また、アルコキシカルボニル基とは、 $-CO-OR$ (R はアルキル基を意味する。)を意味し、直鎖状であっても又は分枝状であってもよい。アルコキシカルボニル基とは、例えば、メトキシカルボニル基、エトキシカルボニル基、プロポキシカルボニル基、1-メチルエトキシカルボニル基、ブトキシカルボニル基、1-メチルプロポキシカルボニル基、2-メチルプロポキシカルボニル基、1, 1-ジメチルエトキシカルボニル基；ベンチルオキシカルボニル基、1-メチルブトキシカルボニル基、2-メチルブトキシカルボニル基、3-メチルブトキシカルボニル基、1, 1-ジメチルプロポキシカルボニル基、1, 2-ジメチルプロポキシカルボニル基、2, 2-ジメチルプロポキシカルボニル基、1-エチルプロポキシカルボニル基、2-エチルプロポキシカルボニル基；ヘキシルオキシカルボニル基、1-メチルベンチルオキシカルボニル基、2-メチルベンチルオキシカルボニル基、3-メチルベンチルオキシカルボニル基、4-メチルベンチルオキシカルボニル基、1, 1-ジメチルブトキシカルボニル基、1, 2-ジメチルブトキシカルボニル基、1, 3-ジメチルブトキシカルボニル基、2, 2-ジメチルブトキシカルボニル基、2, 3-ジメチルブトキシカルボニル基、3, 3-ジメチルブトキシカルボニル基、1-エチルブトキシカルボニル基、2-エチルブトキシカルボニル基、3-エチルブトキシカルボニル基、1, 1, 2-トリメチルプロポキシカルボニル基、1, 2, 2-トリメチルプロポキシカルボニル基、1-エチル-1-メチルプロポキシカルボニル基、1-エチル-2-メチルプロポキシカルボニル基、2-エチル-1-メチルプロポキシカルボニル基、2-エチル-2-メチルプロポキシカルボニル基；ヘプチルオキシカルボニル基、メチルヘキシルオキシカルボニル基、ジメチルベンチルカルボニル基、エチルベンチルオキシカルボニル基、トリメチルブトキシカルボニル基、メチルエチルブトキシカルボニル基、プロピルブトキシカルボニル基；オクチルオキシカルボニル基、メチルヘプチルオキシカルボニル基、ジメチルヘキシルカルボニル基、エチルヘキシルオキシカルボニル基、トリメチルベンチルオキシカルボニル基、メチルエチルベンチルオキシカルボニル基、プロピルベンチルオキシカルボニル基、テトラメチルブトキシカルボニル基；ノナニルオキシカルボニル基、メチルオクチルオキシカルボ

4

ニル基、ジメチルヘプチルカルボニル基、エチルヘプチルオキシカルボニル基、トリメチルヘキシルオキシカルボニル基、メチルエチルヘキシルオキシカルボニル基、プロピルヘキシルオキシカルボニル基、テトラメチルベンチルオキシカルボニル基；デカニルオキシカルボニル基、メチルノナニルオキシカルボニル基、ジメチルオクチルカルボニル基、エチルオクチルオキシカルボニル基、トリメチルヘプチルオキシカルボニル基、メチルエチルヘプチルオキシカルボニル基、プロピルヘプチルオキシカルボニル基、テトラメチルヘキシルオキシカルボニル基、ペンタメチルベンチルオキシカルボニル基等が挙げられる。

【0013】低級アルコキシカルボニル基は、1~3個の酸素原子で中断されてもよい。1個の酸素原子で中断された低級アルコキシカルボニル基としては、例えば、メトキシメトキシカルボニル基、エトキシメトキシカルボニル基、プロポキシメトキシカルボニル基、イソプロポキシメトキシカルボニル基、ブトキシメトキシカルボニル基、2-メチルプロピルメトキシカルボニル基、1-メチルプロポキシメトキシカルボニル基、1, 1-ジメチルエトキシメトキシカルボニル基、ベンチルオキシメトキシカルボニル基、イソベンチルオキシメトキシカルボニル基、ネオベンチルオキシメトキシカルボニル基、メチルブトキシメトキシカルボニル基、ヘキシルオキシメトキシカルボニル基、ヘプチルオキシメトキシカルボニル基、オクチルオキシメトキシカルボニル基、ノナニルオキシメトキシカルボニル基；メトキシエトキシカルボニル基、エトキシエトキシカルボニル基、プロポキシエトキシカルボニル基、ブトキシエトキシカルボニル基、メチルプロポキシエトキシカルボニル基、ベンチルオキシエトキシカルボニル基、メチルブトキシエトキシカルボニル基、ヘキシルオキシエトキシカルボニル基、ヘプチルオキシエトキシカルボニル基、オクチルオキシエトキシカルボニル基；メトキシプロポキシカルボニル基、エトキシプロポキシカルボニル基、プロポキシプロポキシカルボニル基、ブトキシプロポキシカルボニル基、ベンチルオキシプロポキシカルボニル基、ヘキシルオキシプロポキシカルボニル基、ヘプチルオキシプロポキシカルボニル基；メトキシブトキシカルボニル基、エトキシブトキシカルボニル基、プロポキシブトキシカルボニル基、ブトキシブトキシカルボニル基、ベンチルオキシブトキシカルボニル基、ヘキシルオキシブトキシカルボニル基；メトキシベンチルオキシカルボニル基、エトキシベンチルオキシカルボニル基、プロポキシベンチルオキシカルボニル基、ベンチルオキシベンチルオキシカルボニル基；メトキシヘキシルオキシカルボニル基、エトキシヘキシルオキシカルボニル基等が挙げられる。

【0014】2個の酸素原子で中断された低級アルコキシカルボニル基としては、例えば、メトキシメトキシメ

5

トキシカルボニル基；エトキシメトキシメトキシカルボニル基、メトキシエトキシメトキシカルボニル基、メトキシメトキシエキシカルボニル基；プロポキシメトキシメトキシカルボニル基、メトキシプロポキシメトキシカルボニル基、メトキシメトキシプロポキシカルボニル基；エトキシエトキシメトキシカルボニル基、エトキシメトキシエトキシカルボニル基、メトキシエトキシエキシカルボニル基；ブトキシメトキシメトキシカルボニル基、メトキシブトキシメトキシカルボニル基、メトキシメトキシブトキシカルボニル基；プロポキシエトキシメトキシカルボニル基、プロポキシメトキシエトキシカルボニル基、エトキシプロポキシメトキシカルボニル基、エトキシメトキシプロポキシカルボニル基、メトキシプロポキシエトキシカルボニル基、メトキシエトキシプロポキシカルボニル基；エトキシエトキシエトキシカルボニル基；ペンチロキシメトキシメトキシカルボニル基、メトキシペンチロキシメトキシカルボニル基、メトキシメトキシペンチロキシカルボニル基；ブトキシエトキシメトキシカルボニル基、ブトキシメトキシエトキシカルボニル基、エトキシブトキシメトキシカルボニル基、エトキシメトキシブトキシカルボニル基、メトキシブトキシエトキシカルボニル基、メトキシエトキシブトキシカルボニル基；プロポキシエトキシエトキシカルボニル基；ブトキシエトキシメトキシカルボニル基、ペンチロキシエトキシメトキシカルボニル基、ヘキシロキシエトキシメトキシカルボニル基等を包含する。

【0015】3個の酸素原子で中断された低級アルコキシカルボニル基としては、例えば、メトキシメトキシメトキシメトキシカルボニル基；エトキシメトキシメトキシメトキシカルボニル基、メトキシエトキシメトキシメトキシカルボニル基；プロポキシメトキシメトキシメトキシカルボニル基、メトキシプロポキシメトキシメトキシカルボニル基、メトキシメトキシメトキシプロポキシカルボニル基等が挙げられる。

【0016】本明細書において、低級アルキル基とは、炭素数1～6個の直鎖状又は分枝状のアルキル基を意味する。低級アルキル基としては、具体的には例えば、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、ブチル基、イソブチル基、sec-ブチル基、tert-ブチル基、ペンチル基、イソペンチル基、ネオペンチル基、tert-ペンチル基、1-メチルブチル基、2-メチルブチル基、1, 2-ジメチルプロピル基、ヘキシル基、イソヘキシル基、1-メチルペンチル基、2-メチルペンチル基、3-メチルペンチル基、1, 1-ジメチルブチル基、1, 2-ジメチルブチル基、2, 2-ジメチルブチル基、1, 3-ジメチルブチル基、2, 3-ジメチルブチル基、3, 3-ジメチルブチル基、1-エチルブチル基、2-エチルブチル基、1, 1, 2-トリ

6

メチルプロピル基、1, 2, 2-トリメチルプロピル基、1-エチル-1-メチルプロピル基、1-エチル-2-メチルプロピル基等が挙げられる。

【0017】R³の低級アルキル基では、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、ブチル基などの炭素数が1～4のアルキル基が好ましく、メチル基及びエチル基がより好ましく、メチル基が更に好ましい。

【0018】一方、R⁴、R⁶、及びR⁷の低級アルキル基では、炭素数が2～5の直鎖状又は分枝状のアルキル基が好ましい。

【0019】R⁶の低級アルキル基は、ヒドロキシ基(-OH)で置換されてもよい。ヒドロキシ基で置換するとき、当該ヒドロキシ基は、低級アルキル基の1位の炭素と結合することが好ましい。ヒドロキシ基で置換された低級アルキル基としては、例えば、ヒドロキシメチル基、ヒドロキシエチル基、1-ヒドロキシプロピル基、1-ヒドロキシ-1-メチルエチル基、1-ヒドロキシブチル基、1-ヒドロキシ-1-メチルプロピル基、1-ヒドロキシペンチル基、1-ヒドロキシ-1-メチルブチル基、1-ヒドロキシ-1-エチルプロピル基、1-ヒドロキシヘキシル基、1-ヒドロキシ-1-メチルペンチル基、1-ヒドロキシ-1-エチルブチル基が挙げられる。

【0020】R⁶は、環骨格の炭素数が4～8のシクロアルキル基であり、具体的には、シクロブチル基、シクロヘキシル基、シクロヘプチル基、シクロオクチル基が挙げられる。

【0021】さらに、本発明化合物は、塩を形成することができる場合があり、それらの塩も同様にカンジタ・アルピカンスの酸性プロテアーゼを阻害する作用を有する。例えば、薬学的に許容されるナトリウム、カリウム等のアルカリ金属、又は、マグネシウム、カルシウム等のアルカリ土類金属との塩、アンモニウム塩、ジメチルアミン、トリエチルアミン等との有機アミンとの塩、アルギニン、リジン等の塩基性アミノ酸との塩が挙げられる。

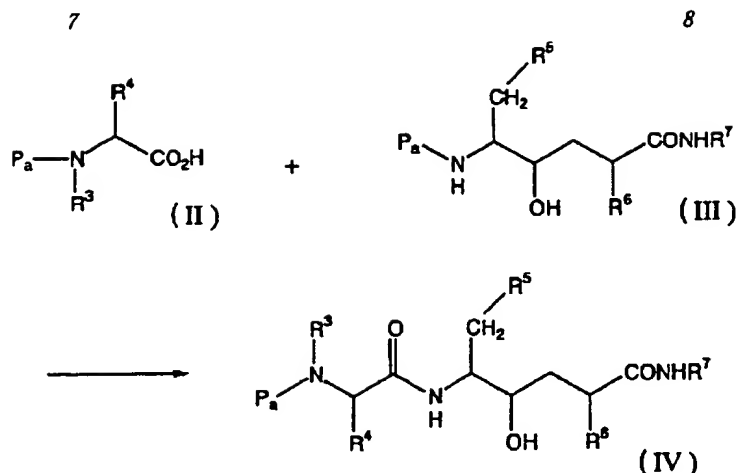
【0022】本発明化合物(I)のペプチド誘導体には、少なくとも2個の不斉炭素原子を有し、光学異性体及びジアステレオ異性体が存在する。本発明には、これらの各種異性体の単離されたもの及びこれら異性体の混合物が含まれる。

【0023】また、本発明化合物は、各種の水和物、各種溶媒和物、互換異性体、結晶多形等も存在するが、本発明化合物には、これら化合物の単離されたもの及びその混合物全ての化合物が含まれる。

【0024】(製造法)本発明化合物及びその塩の製造法を以下説明する。まず、第一工程を次式に示す。

【0025】

【化3】

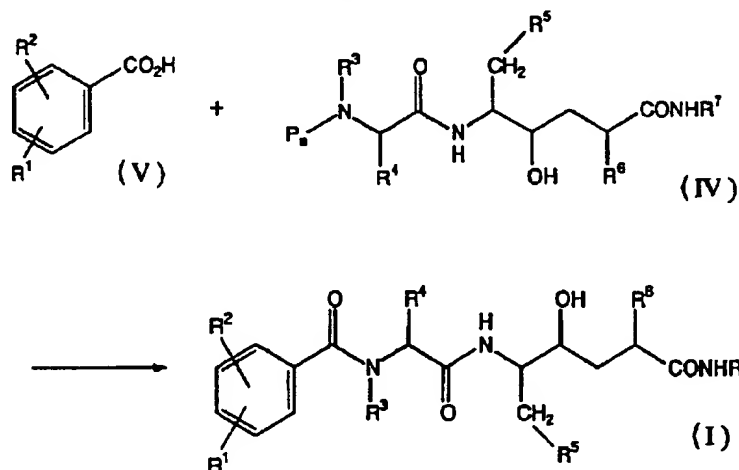


【0026】(式中、Paは、アミンの保護基を意味し、R¹、R⁴、R⁵、R⁶、及びR⁷は、前記の意味を有する。)アミノ基が保護基Paで保護されたアミン(III)を脱保護し、次いで、カルボン酸(II)と反応させ、アミド化することにより、ペプチド(IV)を製*

*造できる。なお、アミン(III)において、アミンが保護されていることは必ずしも必須ではない。次に、第二工程を次式に示す。

【0027】

【化4】



【0028】(式中、R¹、R²、R³、R⁴、R⁵、R⁶、R⁷、及びPaは、前記の意味を有する。)第二工程では、アミノ基が保護基Paで保護されたペプチド(IV)を、第一工程と同様に脱保護し、次いで、カルボン酸誘導体(V)と反応させ、アミド化することにより、本発明のペプチド誘導体(I)を製造できる。

【0029】また、カルボン酸誘導体(V)をアミン(III)とまず縮合させ、次いで、アミン(III)と縮合させて、本発明化合物(I)を合成してもよい。

【0030】カルボン酸誘導体(V)の代わりに、活性エステルを用いて縮合してもよい。p-ニトロフェノール等のフェノール系、N-ヒドロスクシンイミド、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール等のN-ヒドロキシルアミン系の化合物と反応させて得られる活性エステル；炭酸モノアルキルエステル、又は有機酸と反応させて得られる混合酸無水物や塩化ジフェニルホスホリル、N-メ

チルモルホリンとを反応させて得られるリン酸系混合酸無水物；エステルをヒドラジン、亜硝酸アルキルと反応させて得られる酸アジド；酸クロライド、酸ブロマイド等の酸ハライド；対称型酸無水物、等のC端活性体を用いるC端活性化法を適用して製造できる。

40 【0031】また、縮合剤の存在下で反応させるカップリング法を適用してもよく、この場合のカップリング試薬としては、N,N-ジシクロヘキシルカルボジイミド(DCC)、1-エチル-3-(3-(N,N-ジメチルアミノ)プロピル)カルボジイミド、カルボニルジイミダゾール、ジフェニルホスホリルアジド(DPPA)やジエチルホスホリルシアニド等が好適である。

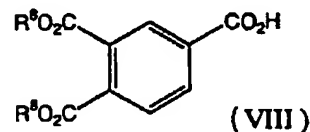
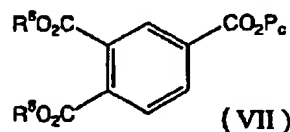
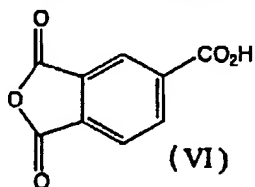
【0032】反応は、通常溶媒中冷却下乃至室温下に行われる。用いられる溶媒は、反応に参与しない有機溶媒、例えばジメチルホルムアミド、ジメチルアミド、ジオキサン、テトラヒドロフラン、エーテル、ジクロロエ

タン、クロロホルム、四塩化炭素、ジメトキシメタン、ジメトキシエタン、酢酸エチル、ベンゼン、アセトニトリル、ジメチルスルホキシド等やこれらの混合溶媒などが挙げられるが、これらの有機溶媒は適用される方法に応じて適宜選択される。また、C端活性体の種類によっては、無水の条件下に実施しなければならない場合がある。

【0033】また、適用される方法によっては、N-メチルモルホリン、トリエチルアミン、トリメチルアミン等の塩基の存在下に反応させるのが反応を円滑に進行させる上で好ましい場合がある。

【0034】Paは、ペプチド分野で通常用いられる保護基がよい。例えば具体的には、ベンジルオキシカルボニル基、p-ニトロベンジルオキシカルボニル基、p-メトキシベンジルオキシカルボニル基、p-クロロベンジルオキシカルボニル基、1, 1-ジメチルエトキシカルボニル基、イソボルニルオキシカルボニル基、p-ビフェニルイソプロピルオキシカルボニル基、3, 5-ジメトキシ- α 、 α -ジメチルベンジルオキシカルボニル基、9-フルオレニルメチルオキシカルボニル基、メチル

【0035】本発明では、ペプチド誘導体(I)がエステル残基を有する場合には、好ましくは水酸化ナトリウム*



【0040】(式中、R^{*}は、酸素原子で中断されてもよい低級アルキル基を意味し、Pcは、カルボキシ基の保護基を意味する。)ベンゼントリカルボン酸無水物(VI)を所望によりカルボン酸保護基で保護し、NaHCO₃、NaOH等のアルカリ性で加水分解をした後、R^{*}と置換反応をすることにより、保護された安息香酸誘導体(VII)を製造することができる。更に保護基Pcを脱保護し、安息香酸誘導体(VIII)を製造することができる。Pcは、ペプチド分野で通常用いられる保護基がよい。例えば具体的にはベンジル基、p-ニトロベンジル基、p-メトキシベンジル基、ジフェニルメチル基、ベンズヒドリル基等の置換ベンジル基類、tert-ブチル基、メチル基、エチル基、フェナシル基、トリクロロエチル基等が挙げられる。

【0041】

【実施例】以上、本発明化合物及びその製造法について

*ム、水酸化カリウム若しくはこれらのアルコラート、又は炭酸ナトリウム、炭酸カリウム等のアルカリ条件下で加水分解することにより、対応するカルボン酸を得ることができる。

【0036】このようにして製造された本発明に従う化合物は、遊離のまま又はその塩として単離され、精製される。単離、精製は、抽出、結晶化、再結晶、各種クロマトグラフィー等の通常の化学操作を適宜適用して行われる。

【0037】また、ラセミ化合物は適当な原料化合物を用いることにより、あるいは一般的なラセミ分割法(例えば、一般的な光学活性酸(酒石酸等)とのジアステレオマー塩に導き、光学分割する方法等)により、立体化学的に純粋な異性体に導くことができる。また、ジアステレオマー混合物は常法、例えば分別結晶化又はクロマトグラフィー等により分離できる。

【0038】カルボン酸誘導体(V)は、ビス(アルコキシカルボニル)安息香酸誘導体(VII)を包含する。この安息香酸誘導体(VII)は、下記反応式で示される方法に従って製造することができる。

【0039】

【化5】

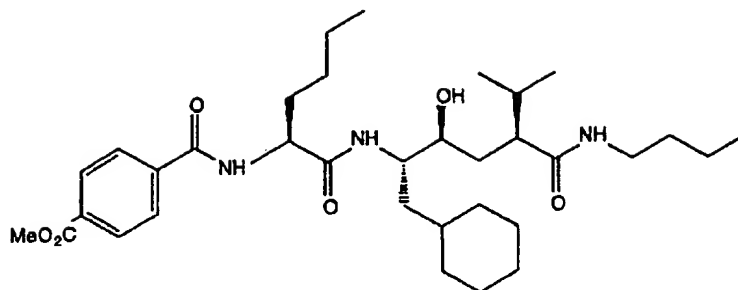
説明したが、以下、実施例により更に詳細に説明する。但し、本発明化合物はこれらの実施例により何等制限されるものではない。まず、実施例で用いる出発原料の合成方法を参考例で示す。

【0042】(参考例)アミノ基が保護されたアミンである、(2S, 4S, 5S)-N-ブチル-5-t-ブチルオキシカルボニルアミノ-6-シクロヘキシル-4-ヒドロキシ-2-イソプロピルヘキサナムドは、ジャーナル・オブ・オーガニック・ケミストリー(J. Org. Chem.) 51 4823~4833(1986)、ケミストリー・レター(Chem. Lett.) 1993~1996(1989)、及び、テトラヒドロロン・レター(Tetrahedron Lett.) 30(4) 415~418(1989)の合成方法に従って、合成することができる。

【0043】(実施例1)

【0044】

【化6】



【0045】第一工程

前記参考例で得られた(2S, 4S, 5S)-N-ブチル-5-t-ブチルオキシカルボニルアミノ-6-シクロヘキシル-4-ヒドロキシ-2-イソプロピルヘキサナムド1gに、4N塩酸-1, 4-ジオキサン溶液40mlを加え、0℃で1.5時間撹拌した。反応液を減圧留去した後、N, N-ジメチルホルムアミド20mlと、トリエチルアミン0.49mlと、N-t-ブチルオキシカルボニル-L-ロイシン814mgと、1-エチル-3-(3-(N, N-ジメチルアミノ)プロピル)-カルボジイミド塩酸塩677mgと、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール317mgとを加え、室温で5時間撹拌した。反応液に酢酸エチルを加え、10%クエン酸水溶液と飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で順次洗い、酢酸エチル層に存在する沈澱を濾過し、白色固体の(2S, 4S, 5S)-N-ブチル-5-[N(.alpha.)-(t-ブチルオキシカルボニル)-L-ノルロイシルアミノ]-6-シクロヘキシル-4-ヒドロキシ-2-イソプロピルヘキサナムド529mgを得た。さらに濾液を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、溶媒を留去し、エーテルより再結晶して515mgの目的化合物(XVI)を得た。

【0046】質量分析値(m/z): 540 (M+H)⁺, 562 (M+Na)⁺

核磁気共鳴スペクトル(500MHz, CDCl₃, TMS内部標準): δ: 0.75~2.1 (50H, m), 2.45 (1H, bs), 3.12~3.2 (1H, m), 3.25~3.37 (1H, m), 3.56 (1H, d, J=8.4Hz), 3.84 (1H, bs), 4.02 (1H, bd, J=4.8), 5.03 (1H, bs), 5.98 (1H, bs), 6.34 (1H, bs)。

【0047】第二工程

上記第一工程で得た(2S, 4S, 5S)-N-ブチル-5-[N(.alpha.)-(t-ブチルオキシカルボニル)-L-ノルロイシルアミノ]-6-シクロヘキシル-

10 4-ヒドロキシ-2-イソプロピルヘキサナムド(XVI) 471mgに、ジクロロメタン12mlとアニソール600μlとトリフルオロ酢酸12mlとを加え、0℃で1時間撹拌した。反応液を減圧留去した後、ヘキサンを加え、ヘキサンに溶解する化合物を除いた。酢酸エチルを加え、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で洗い、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、溶媒を留去した。残留物に、ジクロロメタン20mlと、モノメチルテレフタレート186mgと、1-エチル-3-(3-(N, N-ジメチルアミノ)プロピル)-カルボジイミド塩酸塩198mgと、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール116mgとを加え、室温で16時間撹拌した。反応液に酢酸エチル60mlを加え、10%クエン酸水溶液と飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で順次洗い、無水硫酸ナトリウムで乾燥した後、溶媒を留去した。残留物を酢酸エチル-メタノールより再結晶し、(2S, 4S, 5S)-N-ブチル-6-シクロヘキシル-4-ヒドロキシ-2-イソプロピル-5-[N(.alpha.)-(4-メトキシカルボニルベンゾイル)-L-ノルロイシルアミノ]ヘキサナムド390mgを得た。

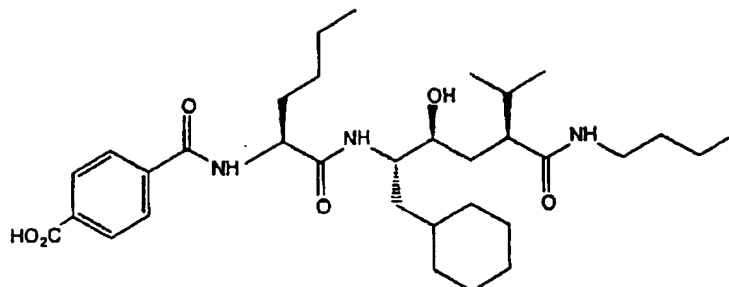
30 【0048】質量分析値(m/z): 602 (M+1)⁺, 624 (M+Na)⁺

核磁気共鳴スペクトル(400MHz, DMSO-d₆, TMS内部標準): δ: 0.65~1.85 (38H, m), 2.0~2.1 (1H, m), 2.9~3.1 (2H, m), 3.15~3.25 (1H, m), 3.7~3.8 (1H, m), 4.35~4.5 (2H, m), 7.34 (1H, d, J=2.3Hz), 7.6~7.65 (1H, m), 8.00 (2H, d, J=8.3Hz), 8.04 (2H, d, J=8.3Hz), 8.62 (2H, d, J=7.8Hz)。

【0049】(実施例2)

【0050】

【化7】



【0051】実施例1で得た (2S, 4S, 5S) -N

1-ブチル-6-シクロヘキシル-4-ヒドロキシ-2-イソプロピル-5-[N(.alpha.)-(4-メトキシカルボニルベンゾイル)-L-ノルロイシルアミノ]ヘキサナムド25mgに、メタノール5mlと、1,4-ジオキサン5mlと、1N水酸化ナトリウム水溶液0.5mlとを加え、室温で2日間撹拌した。水10mlを加え、反応液を約10mlまで減圧留去した。1N塩酸を添加して反応液を酸性にした後、酢酸エチルで抽出し、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、減圧留去し(2S, 4S, 5S)-N-ブチル-5-[N(.alpha.)-(4-カルボキシベンゾイル)-L-ノルロイシルアミノ]-6-シクロヘキシル-4-ヒドロキシ-2-イソプロピルヘキサナムド21mgを得た。

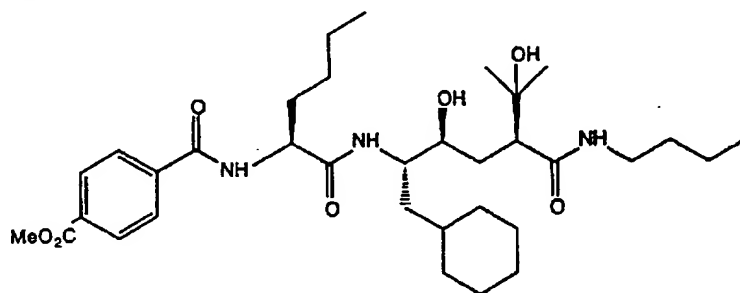
【0052】質量分析値 (m/z) : 586 (M-H) *

核磁気共鳴スペクトル (500MHz, CD₃OD, TMS内部標準) : δ : 0.75~1.85 (37H, m), 1.85~1.98 (1H, m), 2.12~2.2 (1H, m), 3.08~3.15 (1H, m), 3.17~3.24 (1H, m), 3.37~3.41 (1H, m), 3.87~3.95 (1H, m), 4.52 (1H, dd, J=6.7Hz, 8.6Hz), 7.93 (2H, dd, J=1.8Hz, 6.7Hz), 8.1 (2H, dd, J=1.9Hz, 6.7Hz)。

【0053】(実施例3)

【0054】

【化8】



【0055】第一工程

1-ブチルアミン14mgの無水ジクロロメタン溶液1mlにトリメチルアルミニウムのヘキサン溶液97mlをゆっくりと加え、室温で15分間撹拌した。反応液に、(3S, 5S)-5-((1S)-1-t-ブチルオキシカルボニルアミノ-2-シクロヘキシルエチル)-3-(1-ヒドロキシ-1-メチルエチル)ジヒドロフラン-2-オン(XII)60mgの無水ジクロロメタン溶液1mlを加え、室温で17時間撹拌した。反応液に10%グエン酸水溶液を加え、酢酸エチルで抽出した。飽和塩化ナトリウム水溶液で洗った後、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を留去した。残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製した。ヘキサノ-酢酸エチル(70:30)で溶出される画分より、(2S, 4S, 5S)-N-ブチル-5-t-ブチルオキシカルボニルアミノ-6-シクロヘキシル-4-ヒドロキシ-2-(1-ヒドロキシ-1-メチルエチル)ヘキサ

ナムド59mgを得た。

【0056】質量分析値 (m/z) : 443 (M+H)

*, 465 (M+Na) *

核磁気共鳴スペクトル (500MHz, CDCl₃, TMS内部標準) : δ : 0.75~1.9 (37H, m), 2.39 (1H, d, J=11.5Hz), 2.96 (2H, bs), 3.15~3.25 (2H, m), 3.38 (1H, d, J=11.0), 3.48 (1H, bs), 4.67 (1H, d, J=9.1Hz), 6.58 (1H, s)。

第二工程

第一工程で得た (2S, 4S, 5S)-N-ブチル-5-t-ブチルオキシカルボニルアミノ-6-シクロヘキシル-4-ヒドロキシ-2-(1-ヒドロキシ-1-メチルエチル)ヘキサナムド58mgに4N塩酸-1,4-ジオキサン溶液1mlを加え、0℃で1時間撹拌した。反応液を留去した後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶

15

液を加え、酢酸エチルで抽出した。無水硫酸ナトリウムで乾燥後、溶媒を留去した。N, N-ジメチルホルムアミド 0.5 ml と N-*t*-ブチルオキシカルボニル-L-ロイシン 45 mg と 1-ヒドロキシベンゾトリアゾール 21 mg と 1-エチル-3-(3-(N, N-ジメチルアミノ)プロピル)-カルボジイミド塩酸塩 75 mg とを、0℃で残留物に加え、次いで室温で13時間攪拌した。反応液に酢酸エチルを加え、10%クエン酸水溶液、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で順次洗い、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、溶媒を減圧留去した。残留物をジエチルエーテルより沈澱させ、(2S, 4S, 5S)-N-ブチル-5-[N(.alpha.)-(*t*-ブチルオキシカルボニル)-L-ノルロイシルアミノ]-6-シクロヘキシル-4-ヒドロキシ-2-(1-ヒドロキシ-1-メチルエチル)ヘキサナムド 51 mg を得た。

【0057】質量分析値 (m/z): 556 (M+H)

核磁気共鳴スペクトル (500 MHz, CD₃OD, TMS 内部標準): δ : 0.75~1.9 (4H, m), 2.45 (1H, dd, $J=3.0, 6.9$ Hz), 3.1~3.25 (2H, m), 3.3~3.4 (1H, m), 3.85~3.95 (1H, m), 3.95~4.0 (1H, m).

【0058】第三工程

上記第二工程で得た (2S, 4S, 5S)-N-ブチル-5-[N(.alpha.)-(*t*-ブチルオキシカルボニル)-L-ノルロイシルアミノ]-6-シクロヘキシル-4-ヒドロキシ-2-(1-ヒドロキシ-1-メチルエチル)ヘキサナムド 45 mg に 4N 塩酸 *

16

* 1, 4-ジオキサン溶液 2 ml を加え室温で30分攪拌した。反応液を留去した後、ジクロロメタン 1 ml と トリエチルアミン 27 ml とテレフタル酸モノメチルエステルクロライド 20 mg とを加え、室温で18時間攪拌した。反応液に酢酸エチル 20 ml を加え、10%クエン酸水溶液と飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で洗い、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、溶媒を減圧留去した。残留物にジエチルエーテルを加え、沈澱物をさらに分取 TLC で精製した。クロロホルム-メタノール (9:1) で展開し、R_f 値が 0.36 の画分より、(2S, 4S, 5S)-N-ブチル-6-シクロヘキシル-4-ヒドロキシ-2-(1-ヒドロキシ-1-メチルエチル)-5-[N(.alpha.)-(4-メトキシカルボニルベンゾイル)-L-ノルロイシルアミノ]ヘキサナムド 29 mg を得た。

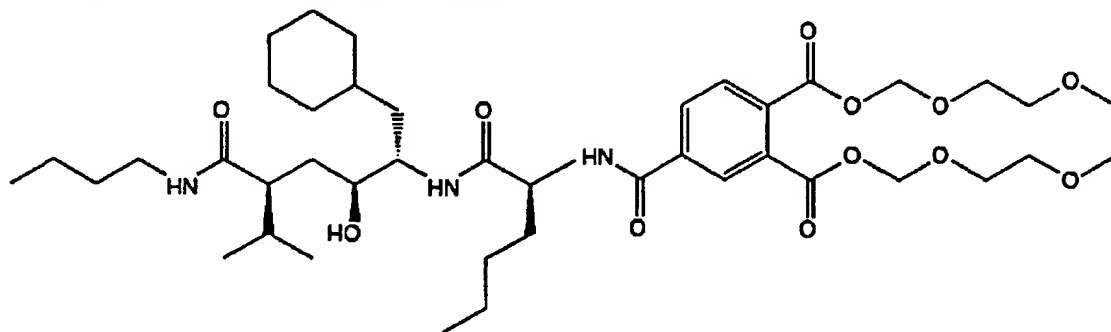
【0059】質量分析値 (m/z): 619 (M+H)
*, 641 (M+Na) *

核磁気共鳴スペクトル (400 MHz, CD₃OD, TMS 内部標準): δ : 0.7~2.0 (37H, m), 2.46 (1H, dd, $J=3.2, 11.5$ Hz), 3.1~3.2 (2H, m), 3.35~3.4 (1H, m), 3.9~3.95 (1H, m), 3.93 (3H, s), 4.52 (1H, dd, $J=6.1, 8.6$ Hz), 7.94 (2H, d, $J=8.6$ Hz), 8.10 (2H, d, $J=8.6$ Hz).

【0060】(実施例4)

【0061】

【化9】



【0062】第一工程

1, 2, 4-ベンゼントリカルボン酸無水物 1.92 g ジメチルホルムアミド溶液 30 ml に、ベンジルプロマイド 1.78 ml とセシウムフルオライド 2.28 g を加え、室温で24時間攪拌した。反応液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 60 ml を加え、2時間攪拌した後、反応液を酢酸エチルで洗い、1N塩酸を反応液に加えて酸性にし、酢酸エチルで抽出した。無水硫酸ナトリウムで乾燥後、溶媒を留去した。残留物に、ジクロロメタン 80 ml と 2-メトキシエトキシメチルクロリド 5.7

1 ml とジイソプロピルエチルアミン 10.45 ml とを加え、室温で20時間攪拌した。反応液を減圧留去し、酢酸エチル 100 ml を加え、10%クエン酸水溶液と飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で順次洗った後、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、次いで溶媒を留去した。残留物をシリカゲルカラムクロマトで精製した。ヘキサノ-酢酸エチル (75:25) で溶出された画分より、ベンジル-3, 4-ビス(2-メトキシエトキシメトキシカルボニル)ベンゾエート 2.15 g を得た。

【0063】質量分析値 (m/z): 477 (M+H)

17

*, 499 (M+Na) *

核磁気共鳴スペクトル (400 MHz, CDCl₃, TMS 内部標準) : δ : 3.36~3.40 (6H, m), 3.55~3.59 (4H, m), 3.86~3.89 (4H, m), 5.40 (2H, s), 5.56 (2H, s), 5.57 (2H, s), 7.35~7.46 (5H, m), 7.80 (1H, d, J=8.24 Hz), 8.25 (1H, dd, J=8.24, 1.47 Hz), 8.47 (1H, d, J=1.47 Hz).

【0064】第二工程

上記第一工程で得たベンジル-3, 4-ビス (2-メトキシエトキシメトキシカルボニル) ベンゾエート 160 mg をメタノール 5 ml に溶解し、水素雰囲気下 15 分間攪拌した。反応混合物を濾過し、濾過液から溶媒を除去し、3, 4-ビス (2-メトキシエトキシメトキシカルボニル) 安息香酸の粗品 115 mg を得た。得られた 3, 4-ビス (2-メトキシエトキシメトキシカルボニル) 安息香酸を、実施例 1 の第二工程と同様に縮合させて、(2S, 4S, 5S) -N-ブチル-5-[N (.α*) 20

18

*lpha.) - [3, 4, -ビス (2-メトキシエトキシメトキシカルボニル) ベンゾイル] -L-ノルロイシルアミノ] -6-シクロヘキシル-4-ヒドロキシ-2-イソプロピルヘキサナムドを得た。

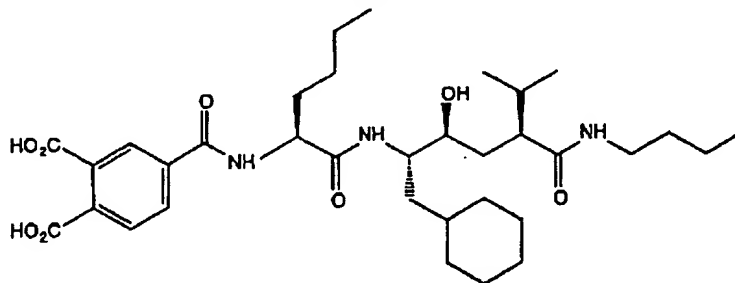
【0065】質量分析値 (m/z) : 808 (M+H) *, 830 (M+Na) *

核磁気共鳴スペクトル (400 MHz, CDCl₃, TMS 内部標準) : δ : 0.75~2.15 (39H, m), 3.15~3.3 (2H, m), 3.38 (6H, s), 3.55~3.65 (5H, m), 3.85~3.9 (4H, m), 3.9~4.0 (1H, m), 3.75~3.8 (1H, m) 5.55 (2H, s), 5.56 (2H, s), 6.47 (1H, bs), 6.84 (1H, bs), 7.40 (1H, bs), 7.78 (1H, d, J=7.8), 7.98 (1H, d, J=7.8), 8.19 (1H, s).

【0066】(実施例 5)

【0067】

【化10】



【0068】実施例 4 で得た (2S, 4S, 5S) -N 30 -ブチル-5-[N (.α*) - [3, 4, -ビス (2-メトキシエトキシメトキシカルボニル) ベンゾイル] -L-ノルロイシルアミノ] -6-シクロヘキシル-4-ヒドロキシ-2-イソプロピルヘキサナムド 40 0 mg に 4N 塩酸-1, 4-ジオキサン溶液 1 ml を加え、室温で 1 時間攪拌した。溶媒を除去後、0.1N 水酸化ナトリウム水溶液を加え、次いで、酢酸エチルで洗った。水層を 1N 塩酸水溶液を加えて酸性とした後、酢酸エチルで抽出し、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、溶媒を除去し (2S, 4S, 5S) -N-ブチル-6-シクロヘキシル-5-[N (.α*) - [3, 4-ジカルボキシベンゾイル] -L-ノルロイシルアミノ] -4-ヒドロキシ-2-イソプロピルヘキサナムド 18 mg を得た。

【0069】質量分析値 (m/z) : 630 (M-H)

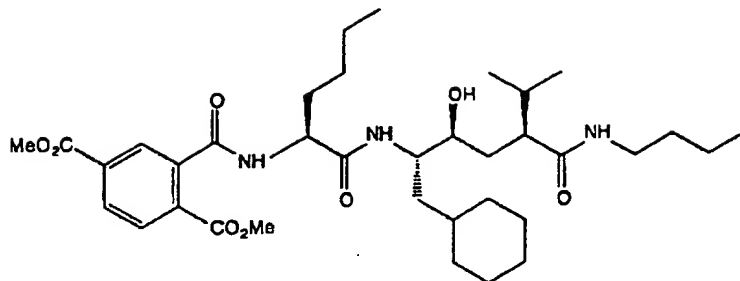
核磁気共鳴スペクトル (500 MHz, CD₃OD, TMS 内部標準) : δ : 0.7~2.0 (38H, m), 2.1~2.2 (1H, m), 3.05~3.15 (1H, m), 3.15~3.25 (1H, m), 3.35~3.4 (1H, m), 3.85~3.95 (1H, m), 4.5~4.55 (1H, m) 7.80 (1H, d, J=7.9 Hz), 8.05 (1H, dd, J=7.9, 1.8 Hz), 8.26 (1H, d, J=1.8 Hz).

【0070】実施例 1 の第二工程と同様の方法により以下の実施例 6~7 の化合物を得た。

(実施例 6)

【0071】

【化11】



【0072】(2S, 4S, 5S)-N-ブチル-5-[N(.alpha.)-(t-ブチルオキシカルボニル)-L-ノルロイシルアミノ]-6-シクロヘキシル-4-ヒドロキシ-2-イソプロピルヘキサナムドと2, 5-ジメトキシカルボニル安息香酸とを縮合させ、(2S, 4S, 5S)-N-ブチル-6-シクロヘキシル-5-[N(.alpha.)-[2, 5-ジメトキシカルボニルベンゾイル]-L-ノルロイシルアミノ]-4-ヒドロキシ-2-イソプロピルヘキサナムドを得た。

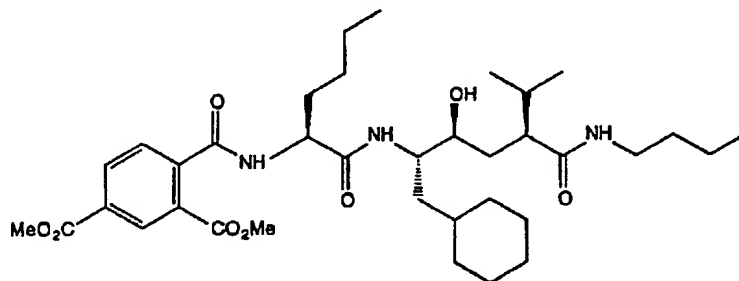
質量分析値(m/z): 660 (M+H)⁺, 682 (M+Na)⁺

10 * 核磁気共鳴スペクトル(400MHz, CD₃OD, TMS内部標準): δ: 0.8~1.95 (3H, m), 2.15~2.25 (1H, m), 3.05~3.25 (2H, m), 3.4~3.45 (1H, m), 3.92 (3H, s), 3.95 (3H, s), 4.44 (1H, dd, J=5.1, 8.6Hz), 8.06 (1H, d, J=7.8Hz), 8.11 (1H, s), 8.17 (1H, d, J=7.8Hz)。

【0073】(実施例7)

【0074】

【化12】



【0075】(2S, 4S, 5S)-N-ブチル-5-[N(.alpha.)-(t-ブチルオキシカルボニル)-L-ノルロイシルアミノ]-6-シクロヘキシル-4-ヒドロキシ-2-イソプロピルヘキサナムドと2, 4-ジメトキシカルボニル安息香酸とを縮合させ、(2S, 4S, 5S)-N-ブチル-6-シクロヘキシル-5-[N(.alpha.)-[2, 4-ジメトキシカルボニルベンゾイル]-L-ノルロイシルアミノ]-4-ヒドロキシ-2-イソプロピルヘキサナムドを得た。

質量分析値(m/z): 660 (M+H)⁺

核磁気共鳴スペクトル(400MHz, CD₃OD, TMS内部標準): δ: 0.8~1.95 (3H, m), 2.15~2.25 (1H, m), 3.05~3.25 (2H, m), 3.4~3.45 (1H, m), 3.94 (3H, s), 3.96 (3H, s), 4.42 (1H, dd, J=4.9, 8.8Hz), 7.61 (1H, d, J=7.8Hz), 8.26 (1H, dd, J=7.8, 2.0Hz), 8.58 (1H, d, J=2.0Hz)。

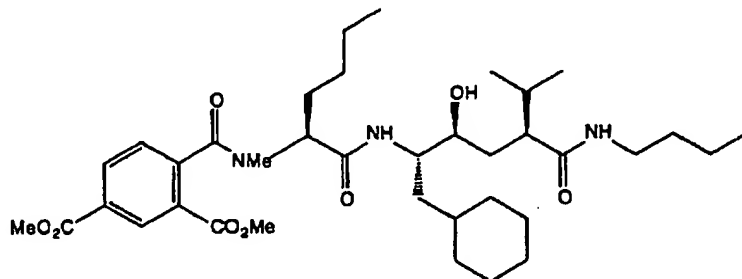
30 m), 2.15~2.25 (1H, m), 3.05~3.25 (2H, m), 3.4~3.45 (1H, m), 3.94 (3H, s), 3.96 (3H, s), 4.42 (1H, dd, J=4.9, 8.8Hz), 7.61 (1H, d, J=7.8Hz), 8.26 (1H, dd, J=7.8, 2.0Hz), 8.58 (1H, d, J=2.0Hz)。

【0076】実施例1と同様の方法により以下の実施例8の化合物を得た。

(実施例8)

【0077】

【化13】



21

【0078】(2S, 4S, 5S) - N-ブチル-5-
t-ブチルオキシカルボニルアミノ) - 6-シクロヘキ
シル-4-ヒドロキシ-2-イソプロピルヘキサナミ
ドとN-t-ブチルオキシカルボニル-N-メチル-L
-ロイシンとを第一工程で縮合させ、更に、第二工程
で、2, 4-ジメトキシカルボニル安息香酸を縮合さ
せ、(2S, 4S, 5S) - N-ブチル-6-シクロヘ
キシル-5- [N(.alpha.) - [2, 4-ジメトキシ
カルボニルベンゾイル) - N(.alpha.) - メチル-L
-ノルロイシルアミノ] - 4-ヒドロキシ-2-イソ
プロピルヘキサナミドを得た。

【0079】質量分析値 (m/z) : 674 (M+H)

核磁気共鳴スペクトル (400MHz, CDCl₃, T*)

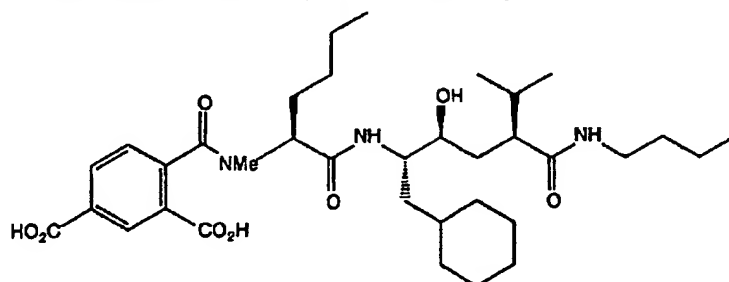
22

*MS内部標準) : δ : 0.75~1.85 (37H, m), 2.05~2.15 (1H, m), 2.2~2.35 (1H, m), 2.65 (3H, s), 3.1~3.2 (1H, m), 3.25~3.35 (1H, m), 3.45~3.55 (1H, m), 3.85~4.0 (2H, m), 3.96 (1H, s), 3.99 (1H, s), 5.31 (1H, bs), 5.75~5.85 (1H, m), 7.34 (1H, d, J=7.8Hz), 7.25~7.4 (1H, m), 8.30 (1H, dd, J=1.5, 7.8Hz), 8.72 (1H, d, J=1.5Hz)。

【0080】(実施例9)

【0081】

【化14】



【0082】実施例8で得た(2S, 4S, 5S) - N-
ブチル-6-シクロヘキシル-5- [N(.alpha.) -
[2, 4-ジメトキシカルボニルベンゾイル) -
N(.alpha.) - メチル-L-ノルロイシルアミノ] -
4-ヒドロキシ-2-イソプロピルヘキサナミド10
0mgに、メタノール4mlと1N水酸化ナトリウム水
溶液325 μ lとを加え、室温で20時間攪拌した。1
N水酸化ナトリウム水溶液148 μ lを更に加え、室温
で8時間攪拌した後、水を40ml加え、酢酸エチルで
洗った。1N塩酸を加えて酸性にした後、酢酸エチルで
抽出し、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、溶媒を留去し、
(2S, 4S, 5S) - N-ブチル-6-シクロヘキシル-5- [N(.alpha.) - [2, 4-ジカルボキシベ
ンゾイル) - N(.alpha.) - メチル-L-ノルロイシ

※ルアミノ] - 4-ヒドロキシ-2-イソプロピルヘキサ
ナミド84mgを得た。

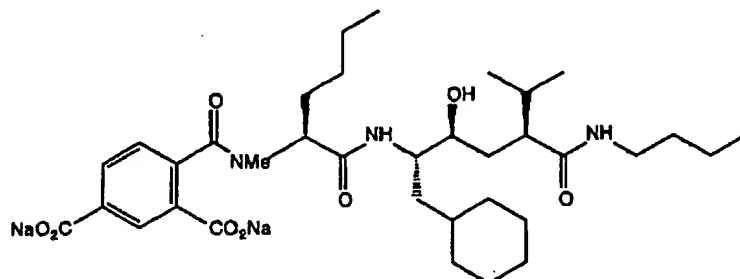
【0083】質量分析値 (m/z) : 644 (M-H)

核磁気共鳴スペクトル (500MHz, CD₃OD, T
MS内部標準) : δ : 0.8~1.9 (37H, m), 2.05~2.25 (2H, m), 2.71 (3H, s), 3.1~3.25 (2H, m), 3.4~3.45 (1H, m), 3.9~4.0 (1H, m), 7.40 (1H, d, J=7.9Hz), 8.31 (1H, d, J=7.9Hz), 8.73 (1H, s)。

【0084】(実施例10)

【0085】

【化15】



【0086】実施例9で得た(2S, 4S, 5S) - N-
ブチル-6-シクロヘキシル-5- [N(.alpha.) -
[2, 4-ジカルボキシベンゾイル) - N(.alpha.) -
メチル-L-ノルロイシルアミノ] - 4-ヒドロ

キシ-2-イソプロピルヘキサナミド62mgに、水
1mlと1N水酸化ナトリウム水溶液192 μ lとを加
え、室温で1分間攪拌した。その後、凍結乾燥し、ジソ
ディウム(2S, 4S, 5S) - N-ブチル-6-シク

23

ロヘキシル-5-[N(.alpha.)-[2,4-ジカルボキシラートベンゾイル]-N(.alpha.)-メチル-L-ノルロイシルアミノ]-4-ヒドロキシ-2-イソプロピルヘキサナムド66mgを得た。

【0087】質量分析値(m/z): 644 (M+H-2Na)⁺、666 (M-Na)⁺、688 (M-H)⁺核磁気共鳴スペクトル(500MHz, D₂O, DSS内部標準): δ: 0.8~1.9 (37H, m), 2.0~2.3 (2H, m), 2.76 (3H, s), 3.1~3.25 (3H, m), 3.45 (1H, d, J=11.2Hz), 3.9~4.0 (1H, m), 7.30 (1H, d, J=7.8Hz), 8.02 (1H, d, J=7.8Hz), 8.31 (1H, s).

【0088】(実施例11; 処方例) 精製卵黄レシチン1.265g及びコレステロール264mgを中鎖脂肪酸トリグリセライド(バナセート800)22g中で約80℃に加熱して溶解させ、この溶液を約80℃に保ちつつ、前記実施例1で得られた化合物440mgを更にこの溶液に溶解させた。この溶液21.79gを、グリセリン2.5%(W/V)及び適量の水酸化ナトリウムが含有する注射用水に加え、ポリトロンホモジナイザーで攪拌し、粗乳化液を調整した。この粗乳化液をマイクロフルイダイザーにより乳化し、極めて微細な脂肪粒子が分散した注射剤を得た。この脂肪粒子に、前記実施例1で得られた化合物が含まれていた。

【0089】

【発明の効果】本発明化合物(I)は、カンジダ・アルビカンスが生産する酸性プロテアーゼに対して阻害作用を有するので、酸性プロテアーゼ阻害剤として有用である。従って、本発明化合物は新しい作用機作を持った抗真菌剤として有用である。また、本発明化合物は、抗真菌剤に加えて、抗炎症剤、降圧剤、抗潰瘍剤、抗ウィルス剤等として有用である。

【0090】(試験例)本発明化合物(I)のカンジダ・アルビカンス酸性プロテアーゼの阻害能の測定に用いた方法は下記の通りである。

【0091】牛血清アルブミン(シグマ(株))が0.05Mクエン酸緩衝液(pH3.2)に1%になるように溶解したアルブミン溶液0.8mlに、上記実施例1乃至9で得られた化合物のうちのいずれかを含むメタノール溶液を最高0.05mlと、7単位のプロテアーゼ活性を示す部分精製したプロテアーゼ溶液とを加え、0.05Mクエン酸緩衝液(pH3.2)で全容1mlとした後、37℃で1時間反応させた。この反応は、5%トリクロール酢酸溶液2mlを加えて停止させた。次いで、3000回転/分で15分間遠沈して上清を得た。上述の組成から成る反応液を水中に保持し、同様に処理して得た遠沈上清を対照にして280nmにおける吸光度を測定して阻害活性を測定した。

【0092】カンジダ・アルビカンス酸性プロテアーゼ

24

は、当所保存の臨床分離株をフィルター滅菌した1.2%イースト・カーボンベース(デフコ)と、0.2%牛血清アルブミン(シグマ)と、0.005%イノシトールと、0.001%塩酸サイアミンと0.001%塩酸ピリドキシンとからなる倍地に接種し、27℃で2~4日間培養した。この培養上清をPM10限外濾過膜(アミコン)で4℃で濃縮した。この濃縮粗酵素液を、sephadex G70(ファルマシア 10.05Mクエン酸緩衝液)カラムで0.05Mクエン酸緩衝液(pH3.2)で溶出し、ゲル濾過クロマトグラフィーを行い、即述の方法で活性を測定して活性画分を得た。この活性画分をPM10限外濾過膜(アミコン)で再び濃縮して酵素液を得た。酸性プロテアーゼの活性は、即述の反応組成液で反応させ、37℃で60分間に280nmでの吸光度を0.1だけ増加させる活性を1単位とする。本発明化合物(I)の酸性プロテアーゼ活性は、下記の表にまとめる。

【0093】

【表1】

実施例	IC ₅₀ (M)×10 ⁻³
1	5.6
2	6.5
3	2.9
4	7.6
5	2.4
6	1.6
7	6.0
8	6.8
9	1.6

【0094】一般式(I)で示される化合物、その非毒性の塩、またはその水和物を上記の目的で用いるには、通常、経口または非経口で投与される。投与量は年齢、体重、症状、治療効果、投与方法、処理時間等により異なるが、通常成人ひとり当たり、1日につき0.1mg~100mg、好ましくは1mg~10mgの範囲で1日1回から数回に分け経口投与されるか、若しくは、成人ひとり当たり、1日につき0.1mg~100mgの範囲で、1日1回から数回に分け非経口投与されるか、又は、1日1時間~24時間の範囲で静脈内持続投与される。投与量は種々の条件で変動するので、上記投与量範囲より少ない量で十分な場合もある。本発明による経口投与のための固体組成物としては、錠剤、散剤、顆粒剤等が用いられる。このような固体組成物においては、一つまたはそれ以上の活性物質が、少なくとも一つの不活性な希釈剤、例えば乳糖、マンニトール、ブドウ糖、

25

ヒドロキシプロピルセルロース、微結晶セルロース、デンプン、ポリビニルピロリドン、メタケイ酸アルミン酸マグネシウム等と混合される。組成物は、常法に従って、不活性な希釈剤以外の添加剤、例えばステアリン酸マグネシウムのような潤滑剤や繊維素グリコール酸カルシウムのような崩壊剤、ラクトースのような安定化剤、グルタミン酸またはアスパラギン酸のような溶解補助剤を含有していてもよい。錠剤または丸剤は必要によりショ糖、ゼラチン、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレートなどの胃溶性あるいは腸溶性物質のフィルムで被膜してもよい。

【0095】経口投与のための液体組成物は、薬剂的に許容される乳濁剤、溶液剤、懸濁剤、シロップ剤、エリキシル剤等を含み、一般的に用いられる不活性な希釈剤、例えば精製水、エタノールを含む。この組成物は不活性な希釈剤以外に湿潤剤、懸濁剤のような補助剤、甘

26

味剤、風味剤、芳香剤、防腐剤を含有していてもよい。非経口投与のための注射剤としては、無菌の水性又は非水性的、溶液剤、懸濁剤、及び乳濁剤を包含する。水性的溶液剤、懸濁剤としては、例えば注射剤用蒸留水及び生理食塩水が含まれる。非水性的溶液剤、懸濁剤としては、例えばプロピレングリコール、ポリエチレングリコール、オリーブ油の様な植物油、エタノールのようなアルコール類、ポリソルベート80（商品名）の様な界面活性剤等がある。このような組成物は、さらに防腐剤、湿潤剤、乳化剤、分散剤、安定化剤（例えば、ラクトース）、溶解補助剤（例えば、グルタミン酸、アスパラギン酸）のような補助剤を含んでもよい。これらは例えばバクテリア保留フィルターを通す濾過、殺菌剤の配合、又は照射によって、無菌化される。これらはまた無菌の固体組成物を製造し、使用前に無菌水または無菌の注射用溶媒に溶解して使用することもできる。

フロントページの続き

(51) Int. Cl. 6

A 6 1 K 38/55

識別記号

ACL

ADY

ADZ

庁内整理番号

F I

技術表示箇所

A 6 1 K 37/64

ACL

ADY

ADZ